

論文内容要旨

Repair of an Osteochondral Defect With Minced Cartilage Embedded in Atelocollagen Gel: A Rabbit Model

(ウサギモデルにおける骨軟骨欠損に対するアテロコラー
ゲン包埋細切軟骨片の治療効果)

American Journal of Sports Medicine, 2019, in press.

主指導教員：安達 伸生教授

(医系科学研究科 整形外科学)

副指導教員：大段 秀樹教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：久保 忠彦准教授

(医系科学研究科 整形外科学)

松下 亮介

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【目的】

関節軟骨の損傷は変形性関節症を惹起し、関節機能の低下や疼痛の原因となる。しかし、関節軟骨は修復能力に乏しく、一度損傷するとしばしば治療に難渋するため、適切な治療が求められる。1994年に Britteberg らは、広範囲の軟骨損傷に対する自家培養軟骨移植術(以下 ACI)を提唱したが、移植部からの細胞漏出や不均衡な細胞分布などが問題であった。その欠点を克服するため Ochi らは軟骨細胞をアテロコラーゲンゲルへ包埋し三次元培養を行うことで軟骨様組織を作成し欠損部へ移植する第3世代 ACIを開発した。その後、臨床研究等で良好な長期成績が報告され、現在広範な膝関節軟骨欠損に対して利用されている。しかし ACI の欠点として、二期的手術が必要であること、それに伴い時間とコストを要すること、軟骨を単離する際に用いる薬剤などにより細胞傷害が存在すること、正常軟骨基質を破壊するといったことが挙げられる。近年、細切軟骨片を fibrin glue で骨軟骨欠損部に移植固定する報告が散見され、一期的な手技で良好な成績を得ることができる可能性が考えられている。そこで本研究の目的は、日本白色家兎の膝関節骨軟骨欠損に対してアテロコラーゲンゲルを足場として細切軟骨を包埋し移植することの効果解析することとした。

【方法】

in vitro: 日本白色家兎の膝、肩、股関節より採取した関節軟骨を細切後、軟骨細胞を単離。その後細切した軟骨片および単離した軟骨細胞をアテロコラーゲンゲルに包埋し約 3 週間培養した。アテロコラーゲンゲル 100 μ L に 2.0×10^5 個の軟骨細胞を包埋した IC 群、アテロコラーゲンゲル 100 μ L に 12.5mg の細切軟骨片を包埋した M1 群、25mg の細切軟骨片を包埋した M2 群の 3 群を作成し、3 週間培養後、細胞数および Bern score を検討した。

in vivo: 日本白色家兎の大腿骨 patella groove に 6×4mm、深さ 3mm の骨軟骨欠損を作成し、**in vitro** と同様に軟骨細胞および細切軟骨片を作成した。欠損のみの欠損群、アテロコラーゲンゲルのみを欠損部に充填したアテロコラーゲン群、同種の軟骨細胞をアテロコラーゲンゲルに包埋し約 3 週間培養後欠損部に充填した ACI 群、同種の細切軟骨片をアテロコラーゲンゲルに包埋し一期的に充填した Minced cartilage 群の 4 群を作成した。術後 4 週、12 週、24 週で組織学的検討、免疫染色および Pineda's scale による評価を行った。

【結果】

in vitro: M 群では細切軟骨片の残存を認め、軟骨片の外へ細胞の遊走を認めた。Bern score は IC 群および M1 群に比べ M2 群が有意に高値であり、細胞数は IC 群より M1 群、M1 群より M2 群に有意に多くの細胞を認めた。

in vivo: 肉眼的所見では、欠損群は 24 週でも欠損が残存しており、その他の群では週が経過するごとに骨膜は消失し、表面が平滑な組織での修復を認めた。特に Minced cartilage 群では表面は平滑で関節軟骨様の組織で被覆されていた。組織学的所見は、欠損群はいずれの週もサフラ

ニン O 陽性組織は少なく、その他の群では 4 週の時点でサフラニン O 陽性の組織修復が得られており、時間の経過とともに軟骨下骨の修復を認めた。24 週では特に Minced cartilage 群で軟骨および軟骨下骨の良好な修復を認めた。Pineda's scale は 4 週, 12 週の時点で欠損群と Minced cartilage 群に有意差を認め、24 週では欠損群に比べ ACI 群および Minced cartilage 群が、またアテロコラーゲン群に比べ Minced cartilage 群が有意に低値であった。Type 1 collagen 染色では欠損群では染色を認め、その他の群では染色されなかった。Type 2 collagen 染色では欠損群は染色されず、その他の群では染色を認めた。Ki67 染色では、欠損群にくらべ ACI 群, Minced cartilage 群で有意に多くの Ki67 陽性細胞を認めた。

【考察】

海外での過去の研究では、細切軟骨片を fibrin glue で移植固定する方法が散見される。しかし、日本では同種軟骨移植はできないことや、fibrin glue の悪影響、広範な欠損部を被覆困難などの欠点が考えられる。本研究の *in vitro* ではアテロコラーゲンゲルに包埋した細切軟骨片から良好な軟骨細胞の遊走と増殖が確認でき、計算上 M 群では IC 群よりも少ない軟骨量で同等以上の結果が得られた。加えて *in vivo* では骨軟骨欠損にアテロコラーゲンゲルに包埋した細切軟骨片を一期的に移植することで従来 of ACI と同等以上の結果が得られ、骨軟骨欠損が良好に修復されることが証明された。細切軟骨片をアテロコラーゲンゲルに包埋し移植することでより広い面積を比較的少量の軟骨片で被覆でき、また一期的に軟骨修復を行うことができ、より侵襲が少なく、時間的にもコスト的にも優れた治療法の 1 つとなる可能性が考えられる。